

AFOSR 65-1204

*Pressure Chamber for
microelectrophysiological techniques*
Caisson de compression

pour techniques
microélectrophysiologiques

par

Roger CHAGNEUX

AD621287

CLEARINGHOUSE FOR FEDERAL SCIENTIFIC AND TECHNICAL INFORMATION			
Microcopy	Microfilm	13	PP
\$	\$		
PROCESSING COPY			



NOT REPRODUCIBLE
IN PART IS PERMITTED FOR ANY
PURPOSE OF THE U.S. GOVERNMENT

ARCHIVE COPY

BULLETIN DE L'INSTITUT
OCÉANOGRAPHIQUE
FONDATION ALBERT 1^{er}, PRINCE DE MONACO

Volume 61

1964

N° 1287

Copies available
only to DDC users

AVIS AUX AUTEURS

Les auteurs sont priés de se conformer aux indications suivantes :

1. — TEXTE : Les manuscrits *ne varietur* doivent être remis dactylographiés avec double interligne sur le recto seulement de feuilles numérotées. Les noms propres doivent être écrits en capitales ou soulignés d'un double trait; les noms des espèces animales et végétales, ainsi que les noms de navires destinés à paraître en italique, soulignés d'un seul trait.

Le titre doit être suivi du prénom usuel et du nom de l'auteur ainsi que de l'indication du laboratoire. Deux résumés, l'un en français, l'autre en anglais, doivent obligatoirement figurer à la fin du texte.

Les références bibliographiques seront groupées à la fin du manuscrit, après les résumés; elles seront classées, soit alphabétiquement (de préférence), soit chronologiquement, soit dans l'ordre d'apparition dans le texte. Ces références comporteront le nom de l'auteur, initiales des prénoms, date, titre complet de l'article, titre du périodique (abrégé selon les règles internationales, cf. le *Répertoire mondial de périodiques concernant les sciences aquatiques et la pêche*, préparé par la F.A.O., Rome, 1962, et *World list of scientific periodicals*, 4th ed.), volume, pagination complète.

2. — ILLUSTRATIONS : Les dessins doivent être exécutés à l'encre de Chine sur papier calque assez fort, sur bristol, sur carte-grattage ou sur papier millimétré bleu. Ils doivent être envoyés de préférence roulés ou à plat, mais jamais pliés.

Ces dessins devront être d'un tiers plus grands, environ, que le format de la page qui est 18 × 11 cm. Lettres et chiffres seront écrits soigneusement et suffisamment grands pour qu'ils demeurent facilement lisibles, une fois le dessin réduit.

Pour les cartes et plans, il convient de faire seulement une échelle linéaire — dont l'unité de mesure sera évidemment indiquée — et de ne pas mentionner le coefficient de l'échelle, celui-ci étant automatiquement modifié par la réduction du cliché.

Il est préférable que les hachures et les points (grisés) soient réalisés à l'imprimerie; dans ce cas, il suffit d'indiquer au *crayon bleu léger* leur emplacement sur le dessin.

Le numéro d'ordre des figures sera indiqué au *crayon bleu* sur les dessins. Le texte des légendes sera placé à la fin du manuscrit et non sur les figures.

TOUS LES TRAVAUX DE CLICHAGE SONT A LA CHARGE DES AUTEURS.

3. — ÉPREUVES ET TIRÉS A PART : Un jeu d'épreuves est envoyé aux auteurs qui doivent le retourner sans délai après correction.

Les auteurs reçoivent gratuitement cinquante exemplaires de leur publication. Les tirés à part supplémentaires, facturés à un prix spécial, doivent être commandés dès réception de l'imprimé spécial.

PUBLIÉ AVEC LE CONCOURS FINANCIER
DU GOUVERNEMENT DE LA PRINCIPAUTÉ

Imprimerie Nationale de Monaco S.A.

Caisson de compression
pour techniques microélectrophysiologiques

par

Roger CHAGNEUX

Laboratoire de Neurobiologie, Institut océanographique, Monaco.

*Laboratoire de Neurophysiologie cellulaire,
Institut de Neurophysiologie et Psychophysiologie, C.N.R.S., Marseille*

(Manuscrit reçu le 33 octobre 1964)

Bull. Inst. océanogr. Monaco, vol. 51, n° 1287, 8 p., 2 fig., 1964.

Introduction

A la suite des expériences relatives au séjour de longue durée sous pression dans les « maisons sous la mer » [1] (voir expériences de J.-Y. COUSTIAU et Collaborateurs), il a paru opportun d'examiner l'action sur le système nerveux des gaz et des mélanges gazeux sous pression, correspondant à ceux utilisés par les océanographes. Dans cette ligne de recherches, une première question semblait prioritaire, celle de l'action de l'oxygène hyperbare sur la fonction nerveuse.

On connaissait déjà les effets convulsifs occasionnés par l'oxygène hyperbare [2]. Cependant, seules des mesures concernant les variations des propriétés bioélectriques, effectuées directement sur des cellules nerveuses isolées seraient susceptibles d'éclaircir le mécanisme d'action de l'oxygène hyperbare et permettre l'interprétation des effets observés chez les océanographes.

Il s'agit de savoir si ces troubles sont l'effet direct de l'accroissement de la pression partielle d'oxygène (pO_2) sur les propriétés de la membrane électrogène de la cellule nerveuse, ou bien s'ils doivent être attribués à des constriction vasculaires susceptibles de déterminer des ischémies au niveau des centres nerveux.

Un tel programme de recherches est d'ores et déjà proposé et entrepris par les Drs CHALAZONITIS et NAHAS sur les cellules nerveuses géantes d'un Mollusque marin dont l'activité électrique, quoique plus lente [3], est tout à fait analogue à celle des principaux types neuroniques des Mammifères. D'autre part, la longue survie de ces neurones et leur gigantisme permet l'introduction de deux microélectrodes par neurone [4]. La deuxième microélectrode intracellulaire permet en effet l'injection de courants transmembranaires et le contrôle des variations de la résistance de la membrane, simultanément à l'enregistrement des potentiels bioélectriques opéré par la première microélectrode.

Pour permettre la réalisation d'un tel type d'expérience, il fallait construire un caisson de compression, répondant à deux impératifs :

- 1. Fenêtres amovibles permettant l'introduction et la manœuvre des micromanipulateurs porteurs des microélectrodes.
- 2. Hublots à glace transparente pour l'éclairage de la préparation et l'observation des cellules à faible grossissement durant l'introduction des micropipettes.

Enfin ce caisson devait également comporter les dispositifs d'introduction des gaz, leur mise sous pression contrôlée. Il fallait, en outre, que toutes les précautions fussent prises pour éviter la présence dans le caisson de matériel inflammable.

Description de l'appareil

Cette chambre de compression se présente sous la forme d'un tube cylindrique en acier mi-dur de 330 mm de diamètre et de 500 mm de long. Les extrémités de ce tube sont fermées sur un côté par un panneau soudé, sur l'autre côté par un panneau amovible. Ce dernier est monté sur une collerette solidaire du tube permettant sa fixation rigide par boulons sur toute sa circonférence. L'étanchéité est assurée par un joint torique. Ce panneau démontable libère tout un côté du tube et permet l'installation et le montage des différents éléments devant prendre place dans le caisson. Dans ces deux panneaux, une ouverture de 160 mm de diamètre est prévue pour permettre la manipulation. Les deux ouvertures sont obturables par deux panneaux amovibles.

A la partie supérieure, un hublot de 140 mm de diamètre est prévu pour la visualisation. Ce hublot comprend une glace de verre surface de 15 mm d'épaisseur emprisonnée entre une butée et un couvercle. L'étanchéité est assurée par 2 joints plats.

Sur l'arrière, un petit hublot de 40 mm de diamètre ayant les mêmes caractéristiques de montage que le précédent est prévu pour l'éclairage de la préparation.

Une vanne d'entrée et une vanne de purge permettent d'isoler le caisson et de pratiquer une décompression graduelle. Ces vannes en acier inoxydable forgé, sont à soupape.

Directement fixée sur le cylindre, une soupape de sûreté (Fulmax, 981 G) à déclenchement rapide et à grand débit (orifice de sortie, diamètre 42 mm) assure la sécurité. Une canalisation peut être branchée sur la sortie de la soupape en vue d'évacuer les gaz dangereux. Cette soupape a été réglée pour un déclenchement à 6 bars \pm 5 pour cent.

Un manomètre gradué de 0 à 10 bars fixé avant la vanne de purge permet le contrôle rapide et précis de la pression interne du caisson.

Dix passages électriques sont prévus pour les différentes dérivations et excitations. Ces passages sont réalisés à l'aide de connecteurs « JOY 8372 — 103 » isolés pouvant supporter une pression de 100 bars. Ces connecteurs sont vissés directement sur les panneaux de côtés (5 de chaque côté).

A l'intérieur du caisson, une plate-forme parfaitement surfacée est disposée sur deux cornières fixées aux parois du tube. Cette plate-forme repose sur 4 blocs de luciflex et d'amiante. Ces blocs servent à éliminer au maximum les vibrations. Tous les joints sont prévus pour un travail en atmosphère d'oxygène, de même que les vannes, la soupape de sûreté et le manomètre. Les joints des parties vissées sont réalisées à l'aide de ruban Teflon. Le tube, les côtés et les portes sont en acier mi-dur de 15 mm d'épaisseur. Cette épaisseur est très largement suffisante et a en partie été choisie pour obtenir un caisson assez lourd, lui assurant une bonne stabilité. En effet, il est nécessaire d'éliminer au maximum les vibrations lors de la fermeture des portes.

La liaison caisson-bouteilles d'alimentation se fait sous tubes rilsan semi-rigide.

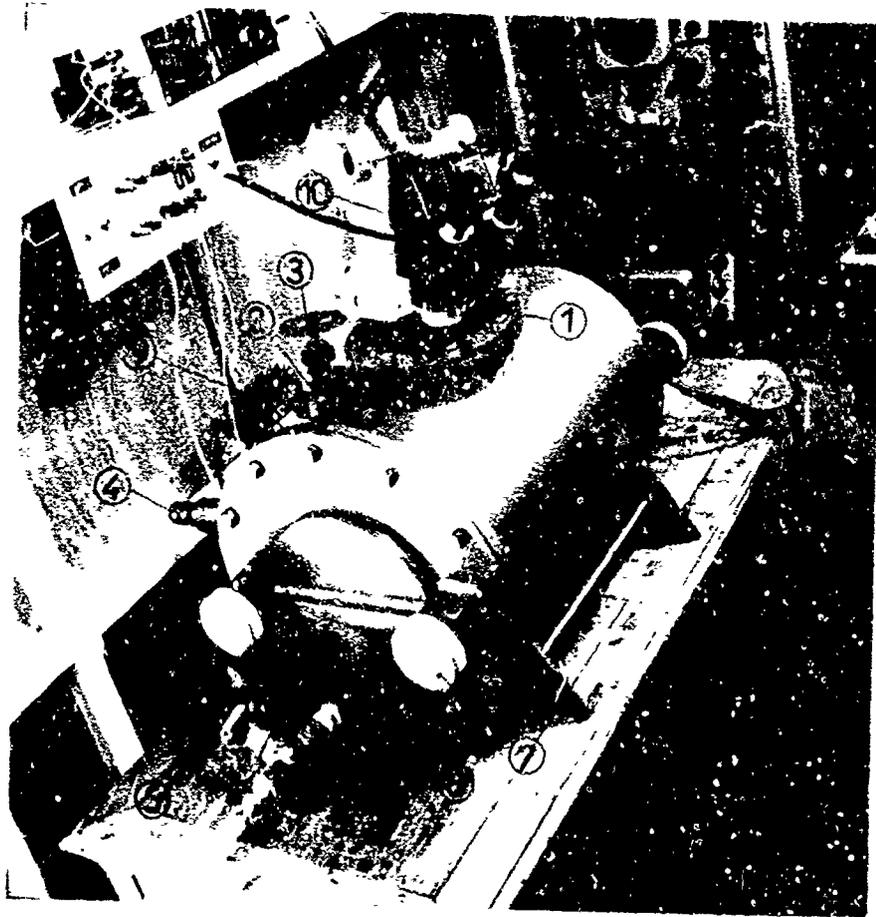


Figure 1

Vue d'ensemble du caisson à son poste de travail en ordre de marche

1. Hublot de visualisation,
2. Hublot permettant l'éclairage de la préparation,
3. Vanne de purge,
4. Soupape de sûreté Fulmax,
5. Vanne d'entrée,
6. Passages électriques,
7. Vis de fermeture des portes,
8. Porte amovible pour manipulation,
9. Source pour éclairage de la préparation,
10. Loupe pour visualisation,
11. Amplificateurs changeurs d'impédance (circuit de dérivation des potentiels bioélectriques)

(1287)

Manipulation

- La manipulation implique quatre opérations consécutivement :
- introduction du centre nerveux dans la chambre de « préparation »,
 - montage des microélectrodes sur les micromanipulateurs,
 - mise en place des micromanipulateurs,
 - introduction des microélectrodes dans les cellules

Lorsque la dérivation des biopotentiels est jugée satisfaisante, on procède rapidement à l'obturation des deux ouvertures de côté, par les portes amovibles. Un carret solidaire de la porte vient prendre place sous deux équerres fixées au tube. L'étanchéité est assurée par joint torique et deux vis de pression de fort diamètre et de faible pas permettant un serrage efficace. Un emboîtement maintient constamment cette porte centrée. Pour le démontage, un quart de tour de la porte libère le carret des équerres.

Ce caisson est essentiellement adapté aux recherches microélectro-physiologiques. Il est possible de réaliser des travaux de micromanipulation à l'intérieur.

Les expériences en cours montrent d'ores et déjà l'efficacité de l'appareil. Une fois fermé, il permet de monter les préparations à des pressions constantes pouvant aller jusqu'à 6 atmosphères.

Quelques légères modifications permettront d'atteindre des pressions plus élevées.

*
*
*

Nous tenons à remercier M. A. LABAN, Directeur de l'O.F.R.S. (Office français de recherches sous-marines, dont le Commandant J.-Y. COUSTEAU est le Président) d'avoir bien voulu examiner les plans de construction de l'appareil. Ses suggestions et ses conseils avertis ont contribué à la réalisation de l'appareil.

En outre, c'est grâce au dévouement constant et à la haute compétence technique de M. POUYET, Chef des Services généraux de Mécanique des Laboratoires de Marseille du C.N.R.S. et de ses collaborateurs, que la construction de cet appareil a pu être menée à bien.

Je voudrais enfin remercier mes collègues MM. A. FOLCO et D. ANDRÉ pour leur excellente contribution dans l'exécution des dessins cotés.

Résumé

Pour permettre la réalisation d'un programme de recherches proposé par les Drs CHALAZONITIS et NAHAS sur l'action des gaz hyperbares sur les cellules nerveuses isolées d'*Aplysia*, nous avons entrepris l'étude et la réalisation d'un caisson de compression. Ce caisson se compose essentiellement d'un tube cylindrique, possédant deux hublots vitrés permettant la visualisation et l'éclairage de la préparation, et de deux portes amovibles à fermeture rapide. Par ces portes amovibles, il est possible d'effectuer les opérations de micromanipulation. Des passages électriques assurent la sortie des différentes dérivations et excitations. Deux vannes (purge et arrêt), un manomètre et une soupape de sûreté complètent l'équipement de ce caisson. Cet appareil adapté aux techniques microélectrophysiologiques permet de soumettre des préparations à des pressions constantes allant jusqu'à 6 bars.

Summary

The carrying out of a research programme proposed by Drs CHALAZONITIS and NAHAS on the effect of hyperbar gases on isolated nerve cells of *Aplysia* has involved the study and construction of a pressure chamber. This chamber is mainly composed of a cylindrical tube, with two glass port-holes allowing the illumination and observation of the biological preparations, and two moveable doors with a quick-closing system which permit micromanipulation. Electrical connections assure all the various remote controls. Two taps (purge and stop), a manometer and a safety valve complete the equipment of the chamber. This equipment meets the requirements of microelectrophysiological techniques and can submit the preparations to constant pressures of as much as 6 bars.

Компрессорный кессон для технических микроэлектрфизиологических работ

Рожэ ШАНЬЕ

Краткое содержание

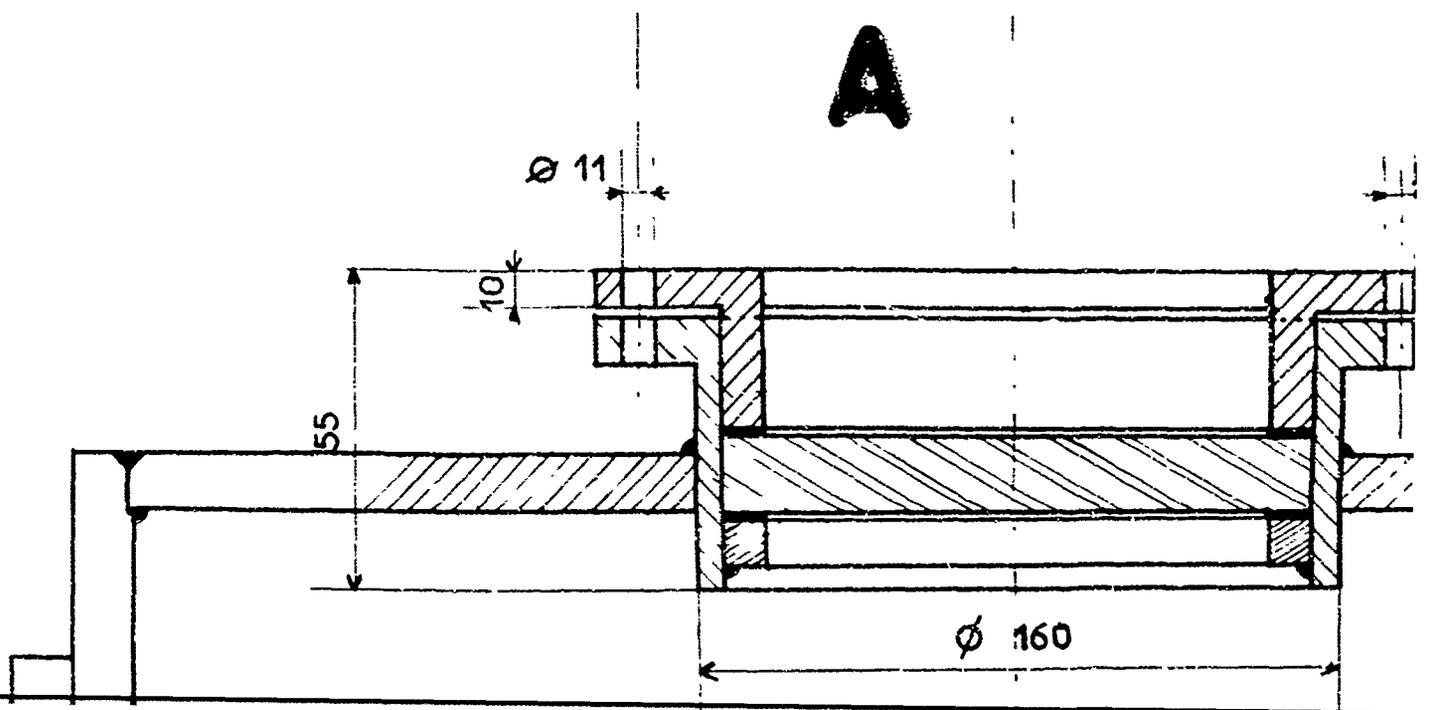
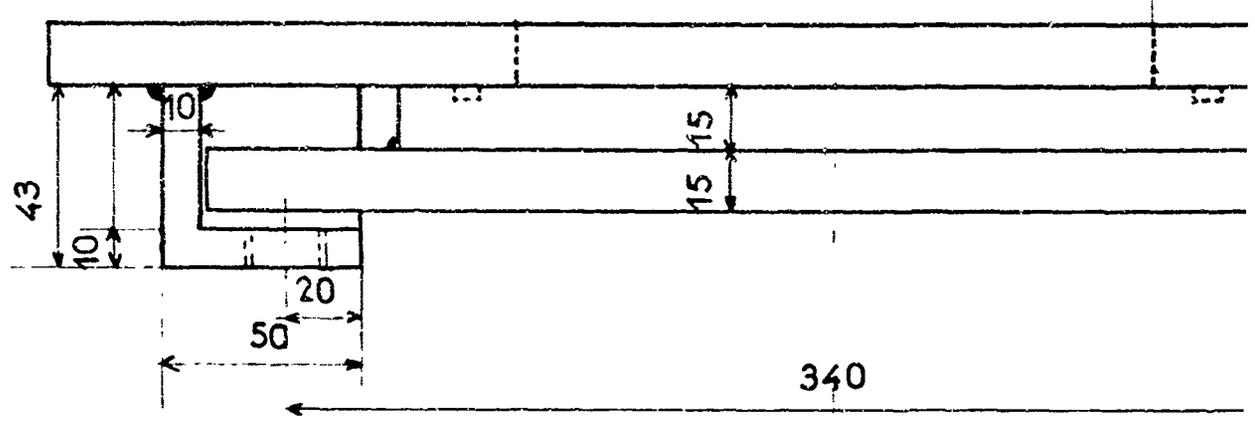
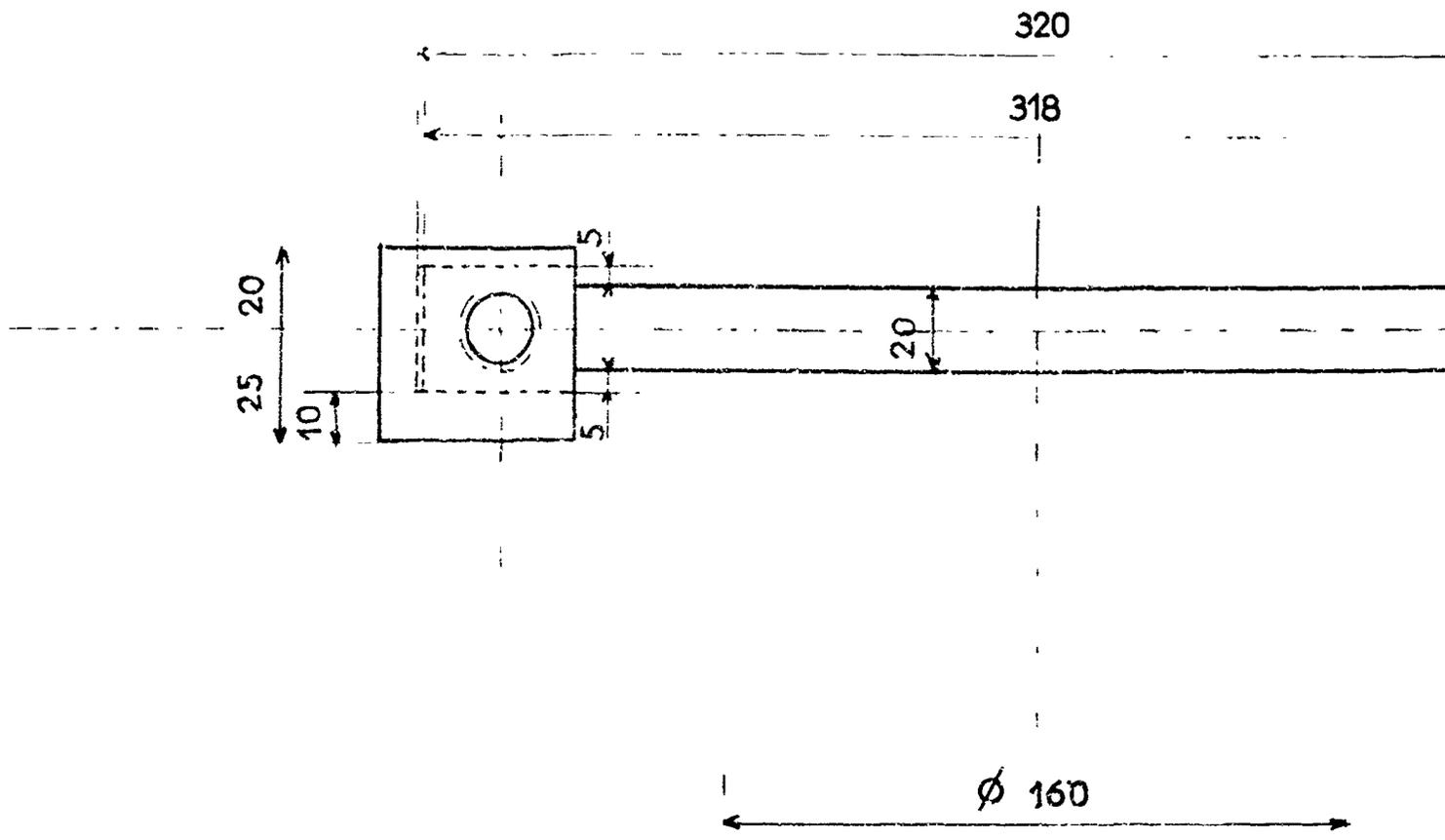
Для осуществления программы исследований, предложенной докторами ШАЛАЗОНИТИС и НАХАС относительно действия компрессорных газов на отдельные клеточки *Aplysia*, мы выработали и осуществили компрессорный кессон. Этот кессон состоит

(1287)

главным образом из цилиндрической трубки, имеющей два стеклянных вентильатора, позволяющих наблюдение и освещение препарата, и из двух быстро закрывающихся дверей. Через эти открывающиеся двери можно манипулировать с микроскопом. Электрическая проводка обеспечивает различные отклонения и возбуждения. Два затвора — очистка и остановка, манометр и предохранительный клапан дополняют оборудование этого кессона. Этот аппарат, приспособленный для гемических микроэлектрофизиологически работ позволяет изучать препараты под постоянными давлениями, достигающими до 6 бар.

Références bibliographiques

- [1] ALINAT (J.). — Séjour prolongé sous les mers. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 19 (à paraître).
- [2] BARTHELEMY (L.). 1963. — Physiopathologie de la plongée en scaphandre autonome. *Acta Inst. Anesthésiol.*, 12, pp. 243-273.
- [3] ARVANITAKI-CHALAZONITIS (A.) & CHALAZONITIS (N.). 1955. — Les potentiels bioélectriques endocytaires du neurone géant d'*Aplysia* en activité autorythmique. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 240, pp. 349-351.
- [4] CHALAZONITIS (N.) & ARVANITAKI (A.). 1964. — Photoconductivité de la membrane de neurones pigmentés (somata géants d'*Aplysia*). *C. R. Soc. Biol.*, 158, pp. 1105-1108.



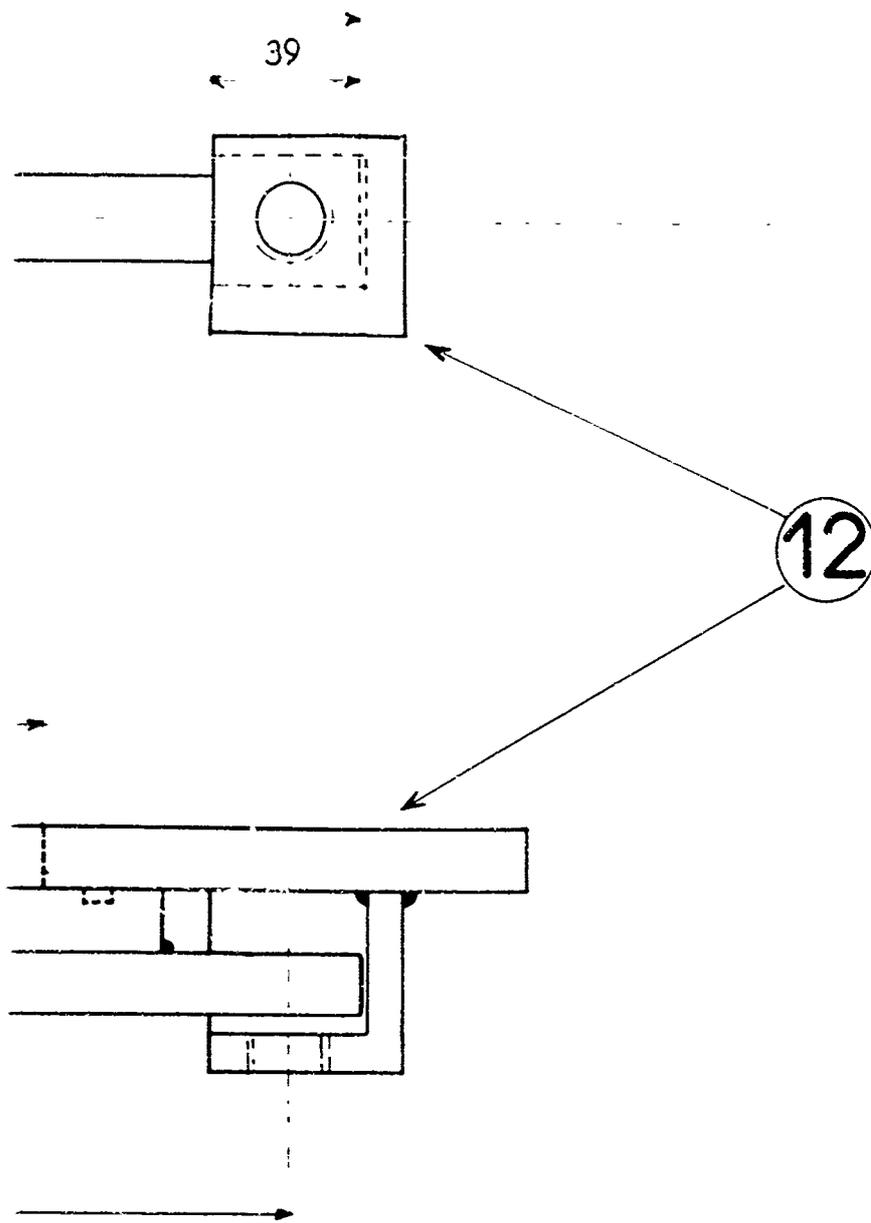
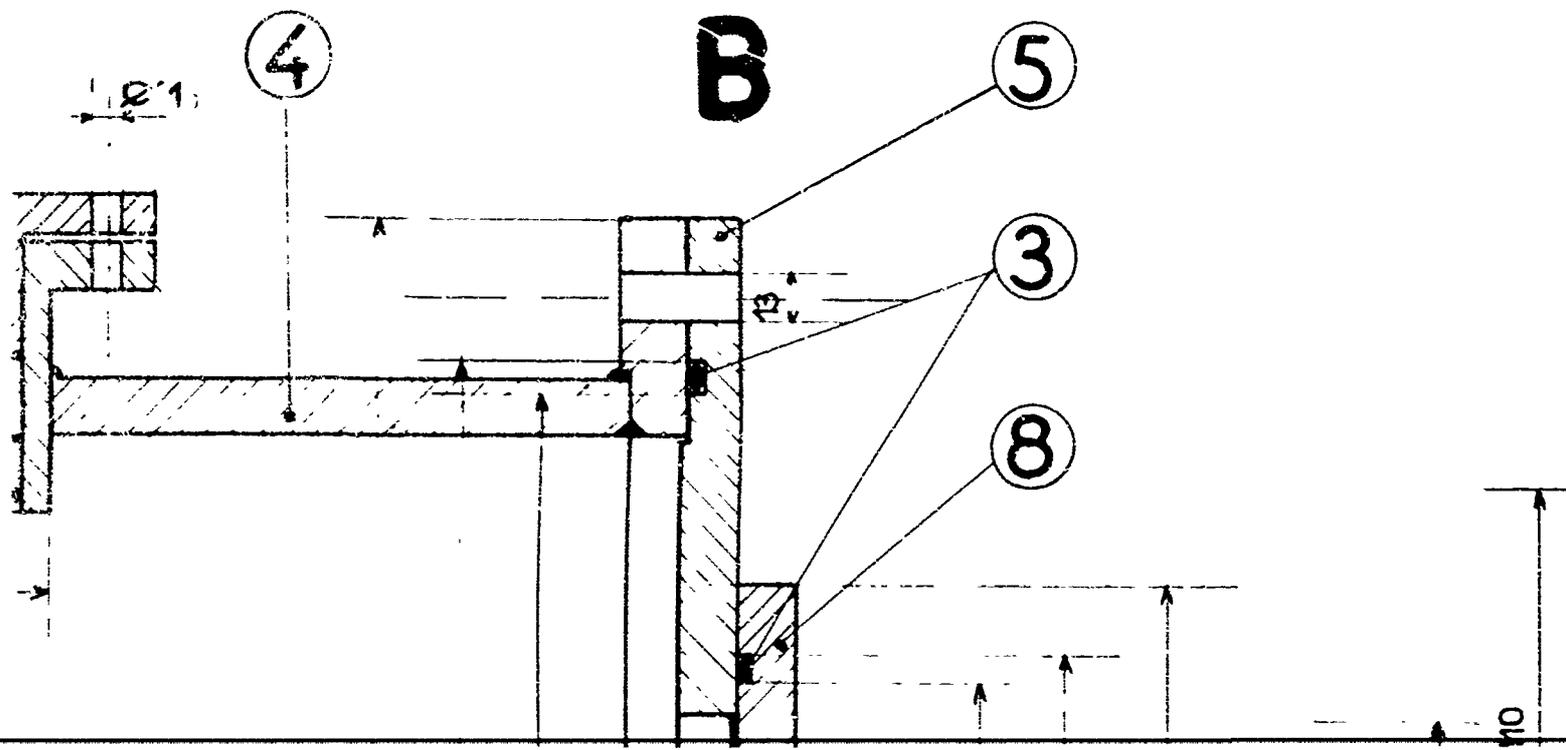


Figure 2

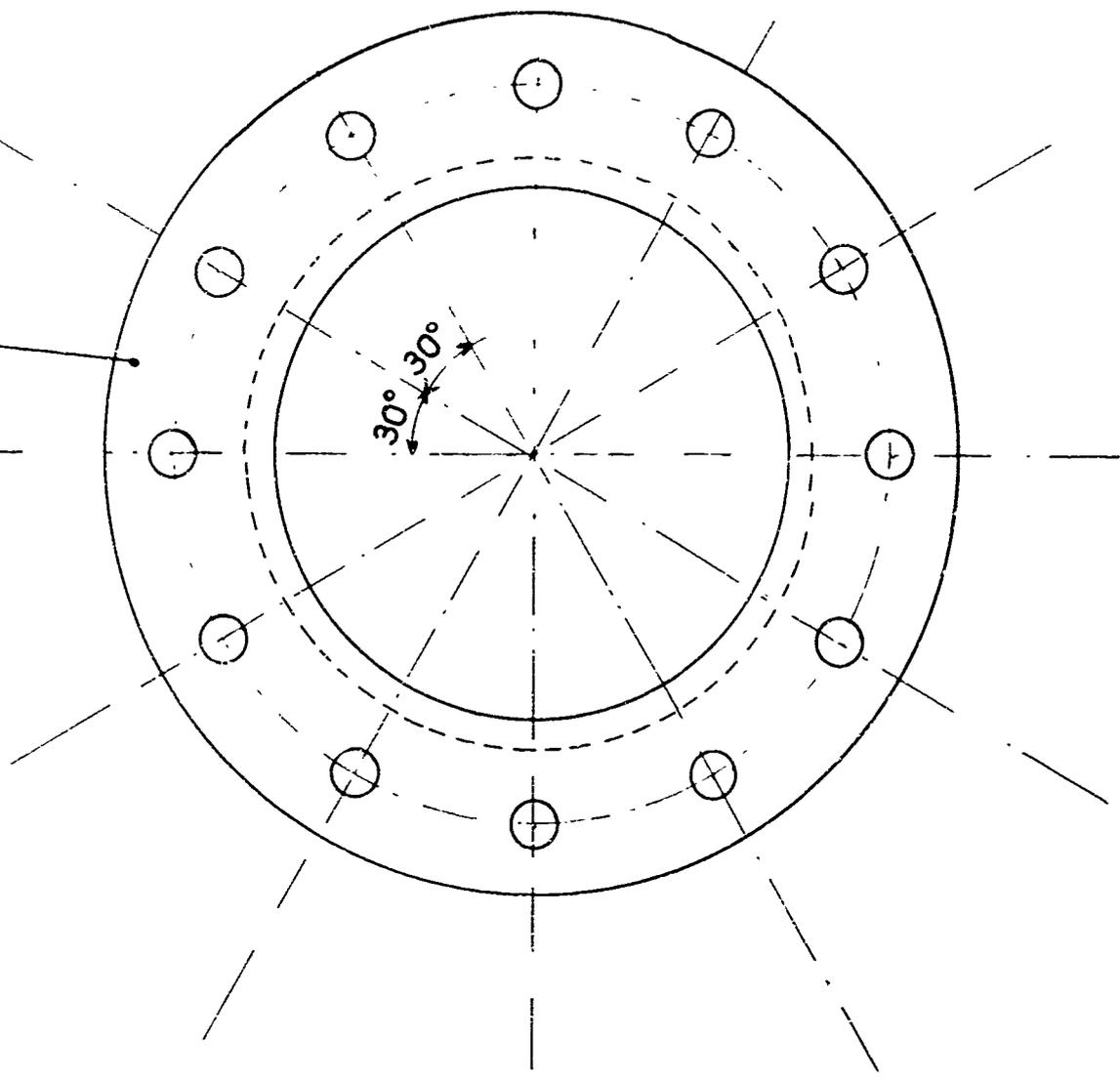
Dessin d'exécution du caisson de compression

1. Hublot de visualisation,
2. Hublot permettant l'éclairage de la préparation,
3. Joints toriques des panneaux amovibles,
4. Corps cylindrique du caisson,
5. Panneau amovible,
6. Blocs amortisseurs amiante et lucoflex,
7. Plate-forme de travail,
8. Porte amovible pour manipulation,
9. Carrelet solide de la porte,
10. Équerre sous laquelle vient prendre place le carrelet assis de la porte,
11. Couvercle du hublot de visualisation,
12. Détail de montage des portes amovibles.



11

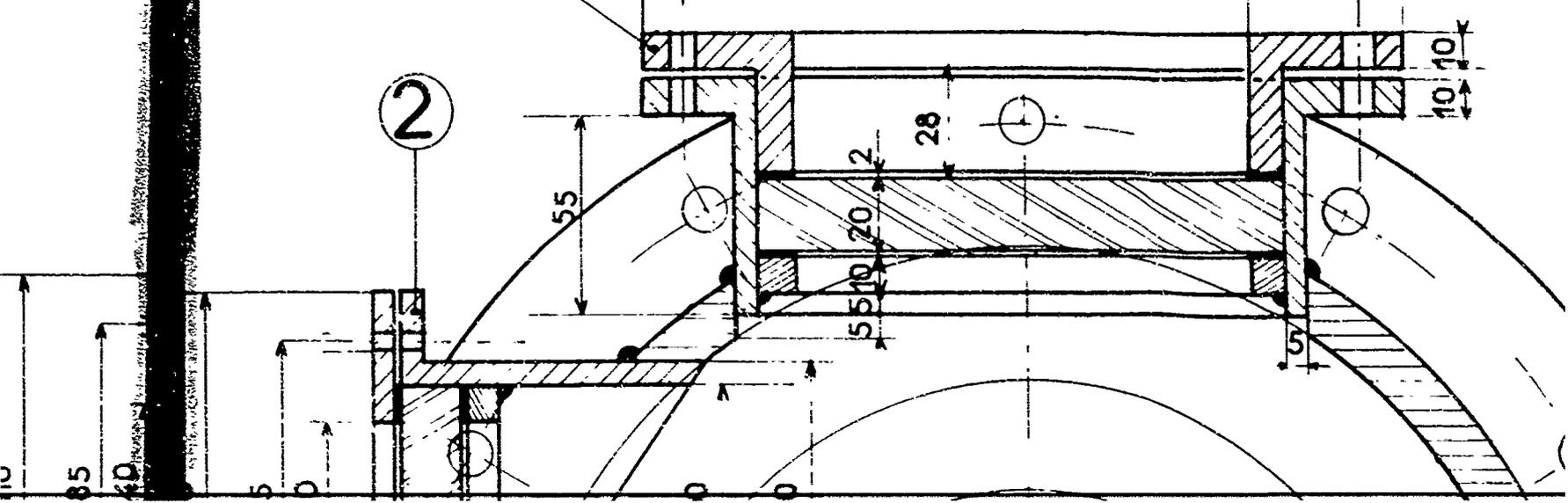
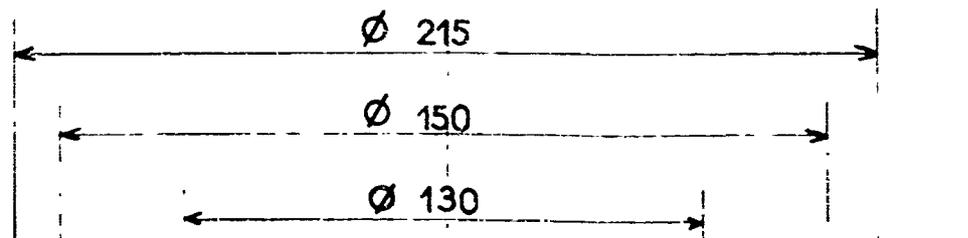
11



C

1

2

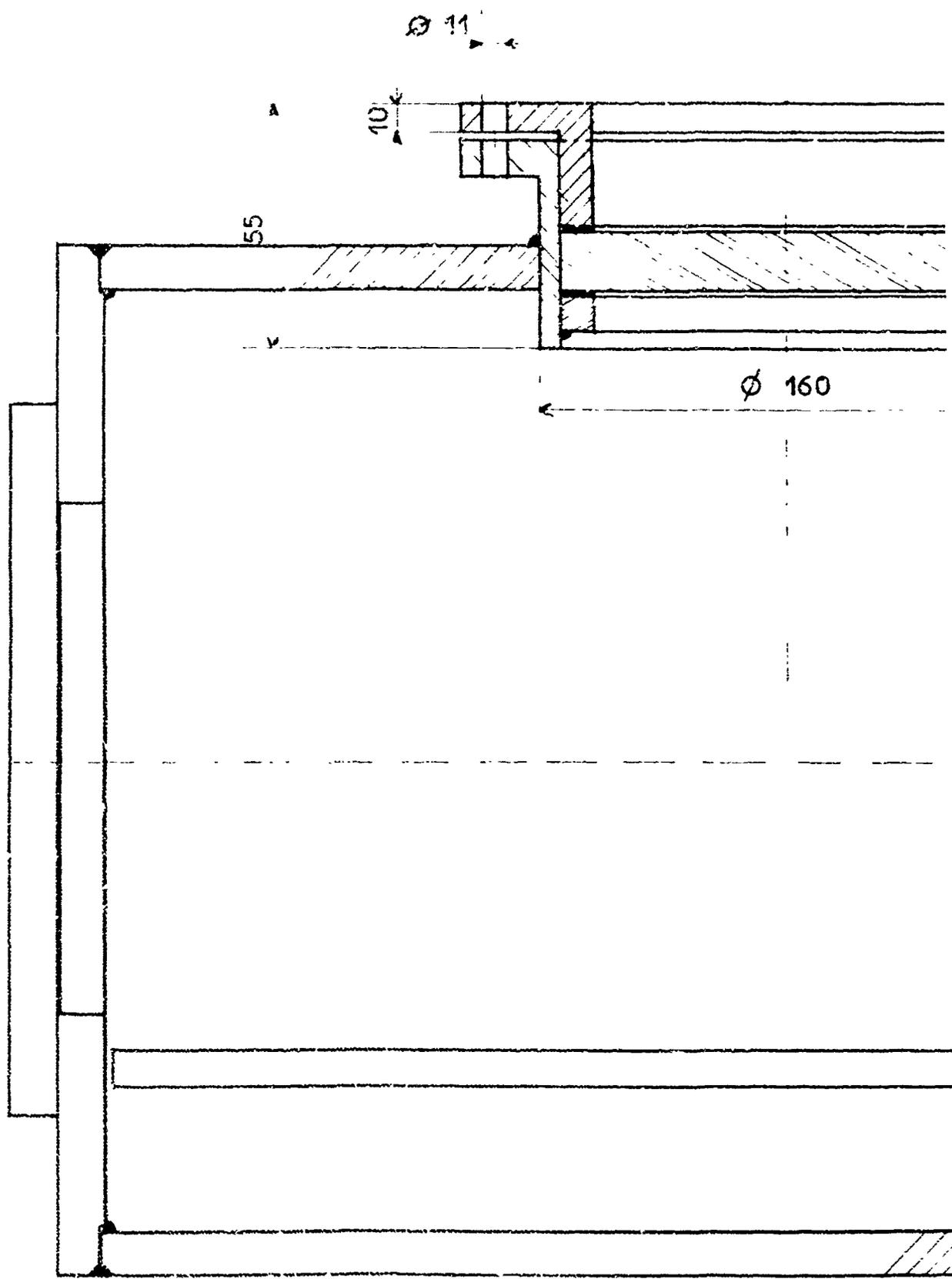


ssion

ion

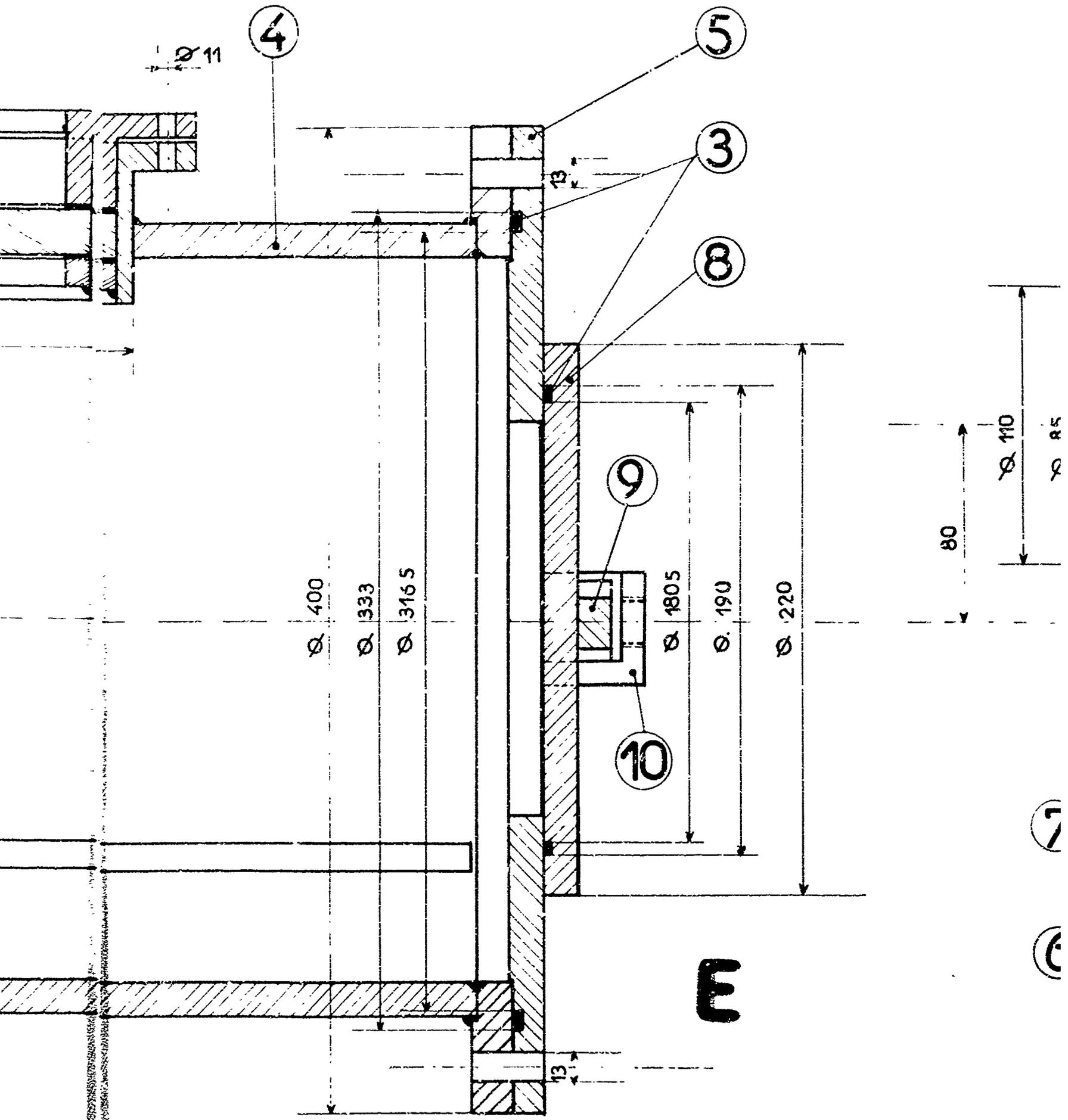
et assurant la fer

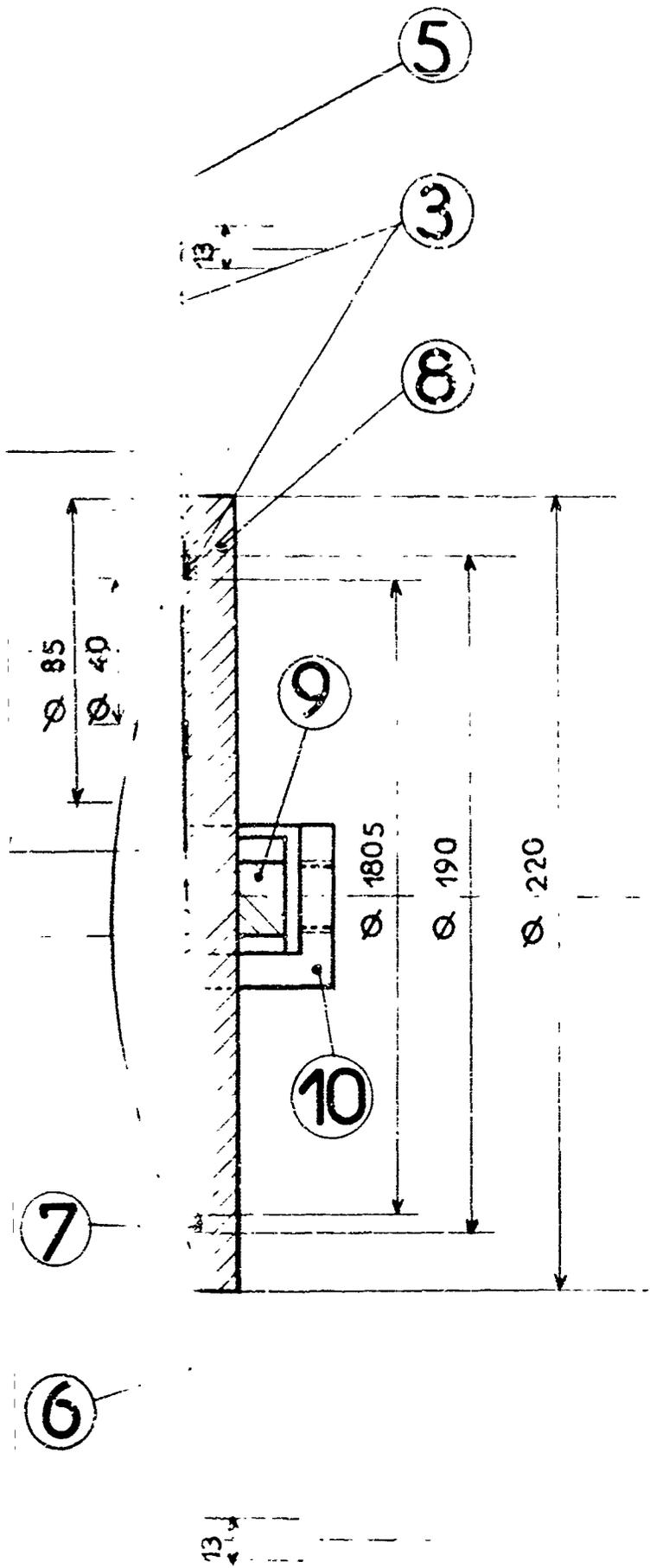
assurant la fermeture



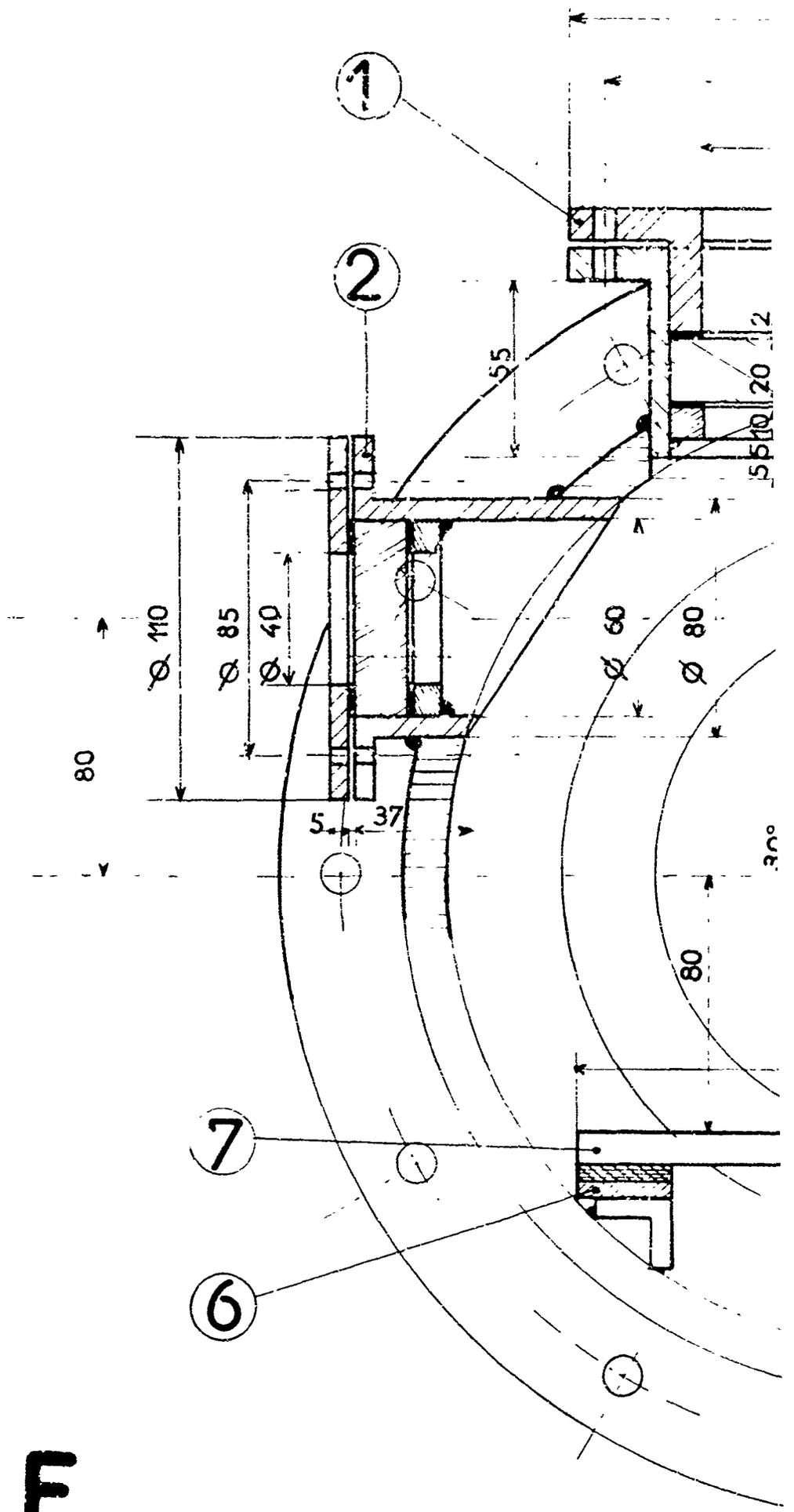
D



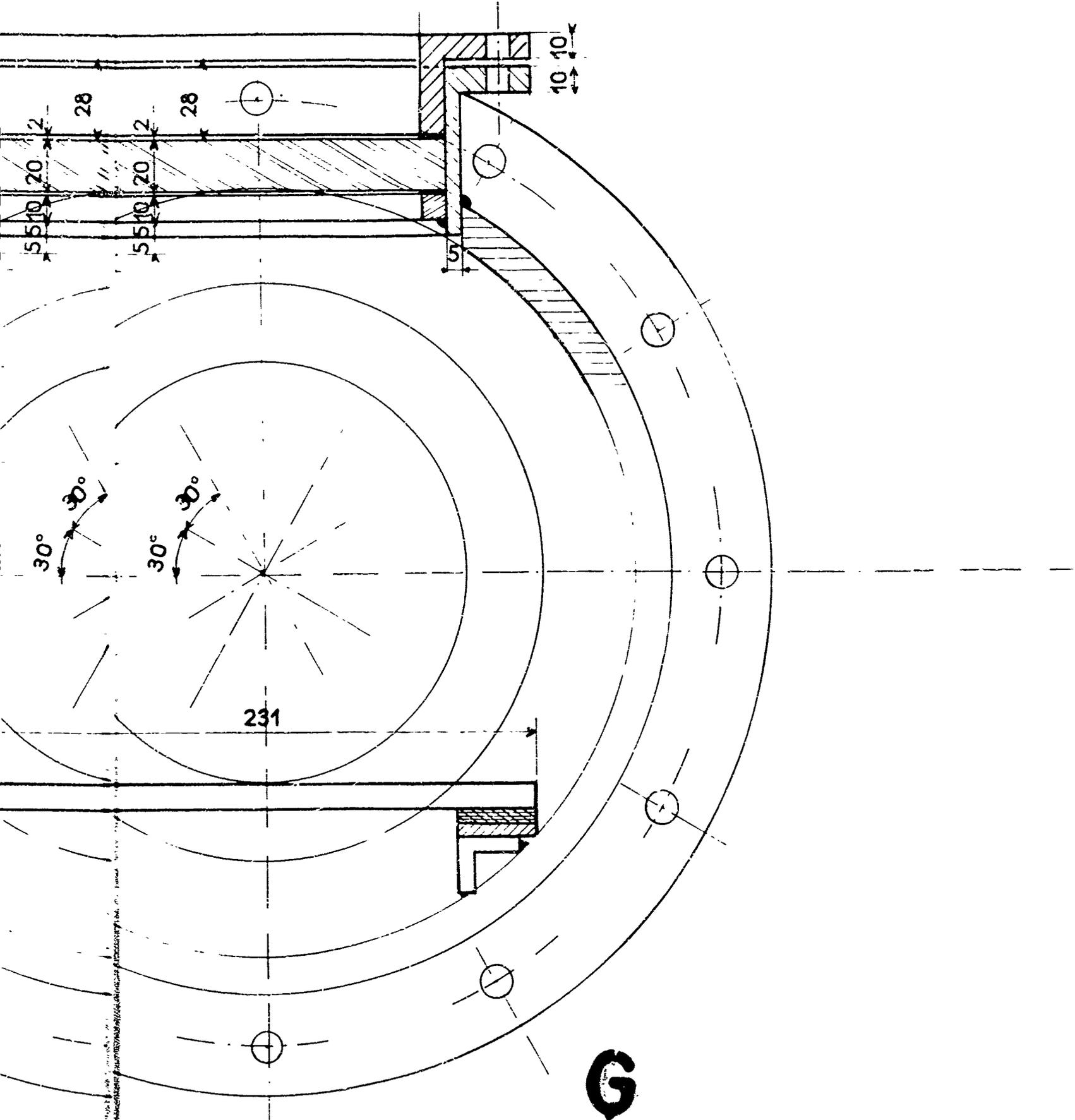




F



- Ø 215
- Ø 150
- Ø 130



G